



TITLE:

キク矮化ウィロイド抵抗性キク品種の選抜および抵抗性機作に関する研究(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

鍋島, 朋之

CITATION:

鍋島, 朋之. キク矮化ウィロイド抵抗性キク品種の選抜および抵抗性機作に関する研究. 京都大学, 2017, 博士(農学)

ISSUE DATE:

2017-01-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20093>

RIGHT:

許諾条件により本文は2018-01-22に公開

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	鍋島朋之
論文題目	キク矮化ウィロイド抵抗性キク品種の選抜および抵抗性機作に関する研究		
(論文内容の要旨)			
<p>キク (<i>Chrysanthemum morifolium</i>) は、世界的に生産量の多い主要な花卉品目であり、切り花や鉢ものとして広く利用されている。キク矮化ウィロイド (<i>Chrysanthemum stunt viroid</i>; CSVd) は、環状一本鎖からなるRNAで、キクに感染し、宿主の複製機構を介して増殖して全身移行する。CSVd濃度が上昇すると、茎の伸長抑制、発根不良、開花期の攪乱などの病徴をもたらすことから、CSVdはキク切り花や鉢ものの商品価値を失わせる難防除重要病害の病原体である。本研究は、CSVd抵抗性品種のスクリーニング法を開発して、これまで存在しないとされてきたキクのウィロイド抵抗性品種をはじめて見出し、選抜した品種の抵抗性機作を調査したものである。</p> <p>第1章では、超微小茎頂分裂組織培養法を用いてキクの茎頂をCSVd高保毒株の根端に移植して、CSVdをin vitroで直接茎頂に感染させてその後にこの茎頂から分化・展開してくる葉におけるCSVd濃度をRT-PCR法により計測する省力的な一次スクリーニング系を構築した。420の営利品種の抵抗性をこの方法により評価したところ、4つのグループに分類することができた。このうち27品種を用いて接ぎ木接種法によって二次スクリーニングを行い、抵抗性の有無を再評価した。その結果、一次スクリーニングにおいて4ヵ月間の調査期間中にCSVdが検出されなかったグループに高い割合で抵抗性品種が見い出されることが明らかとなった。これにより、CSVd抵抗性キク品種の存在がはじめて明らかとなった。</p> <p>第2章では、二次スクリーニング系を改良した。CSVdの二量体RNAをMASプロモーター制御下で発現させるバイナリーベクターを構築し、アグロインフィльтраーション法によりin vitroで育成した植物体の下位葉に接種すると、確実にCSVdに感染させることができ、その後のCSVdの増殖と全身感染もすみやかに起こることを明らかにした。この改良により、二次スクリーニングが小面積で短期間に効率的に行えるようになった。また、CSVdの複製や移行に関する品種比較を高い再現性で実施できるようになった。</p> <p>第3章では、開発したCSVd抵抗性のスクリーニング系を用いて選抜した‘鞠風車’の抵抗性機作を感受性の‘ピアト’と比較することで検討した。その結果、接ぎ木接種では‘鞠風車’穂木のCSVd濃度が‘ピアト’と比較して低くなった。一方アグロインフィльтраーション法によりCSVdを接種すると、接種葉ではCSVdが増殖して蓄積に差はみられなかったものの、抵抗性の‘鞠風車’では接種葉以外の部位でCSVdがほとんど検出されないことを、RT-PCR法およびtissueブロット法により明らかにした。また、in situハイブリダイゼーションによりCSVdが師管にほとんど存在していないことを示した。これらの結果から、‘鞠風車’では維管束近傍におけるCSVdの増殖あるいは移行の効率が低く、感染後の長距離移行が遅れることで、植物体の成長に伴ってCSVd濃度が減少することが抵抗性の機作であると推察した。</p> <p>以上より、本研究は、二段階からなるCSVd抵抗性キク品種の効率的なスクリーニング法を開発し、15の抵抗性品種を選抜したものであり、CSVdの感染拡大の抑制に向けた根本的な解決策を提案し、ウィロイド抵抗性品種育成への道を開いた。</p>			

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3、000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1、100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2、000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

キク (*Chrysanthemum morifolium*) の難防除重要病害の病原体であるキク矮化ウイルス (*Chrysanthemum stunt viroid*; CSVd) は、超微小茎頂分裂組織培養法によりフリー化することができるものの、再感染の問題を排除できない。本研究は、CSVdに対して、二段階からなる効率的な抵抗性品種のスクリーニング法を開発してCSVd抵抗性キク品種を選抜し、その抵抗性の機作を調査したものである。評価すべき点は以下のとおりである。

1. 超微小茎頂分裂組織培養法を用いて茎頂をCSVd高保毒株の根端に移植することでCSVdをin vitroで直接茎頂に感染させ、その後に展開してくる葉におけるCSVd濃度をRT-PCR法により計測する一次スクリーニングと、圃場での接ぎ木接種によって二次スクリーニングを行う選抜方法を構築した。この方法により、一次スクリーニングにおいて新たに展開してきた葉にCSVdが検出されないグループに二次スクリーニングで高い割合で抵抗性品種が見い出されることを明らかにし、これまで存在しないとされてきたCSVd抵抗性キク品種の存在を明らかにした。

2. 二次スクリーニングにおいて、アグロインフィルトレーションによるCSVdの接種法を採用することで、接種葉を確実にCSVdに感染させることができるようになり、小面積で短期間に効率的に行えるようスクリーニング法を改良した。また、この方法により、CSVdの複製や移行に関する品種比較を高い再現性で実施できるようになった。

3. 開発したCSVd抵抗性のスクリーニング系を用いて選抜した‘鞠風車’の抵抗性機作を調査したところ、‘鞠風車’では師管にCSVdがほとんど存在せず、維管束近傍におけるCSVdの増殖あるいは移行の効率が低いことから、感染後の師管を介した長距離移行が遅れることで、植物体の生長に伴ってCSVd濃度が減少することが抵抗性の機作であると推察した。

以上のように、本研究はキクの重要病害の病原体であるCSVdについて、抵抗性品種の効率的なスクリーニング法を開発し、抵抗性キク品種を選抜するとともに、その抵抗性機作を明らかにすることで、ウイルス抵抗性品種育成への道を開いたものであり、花卉園芸学、植物病理学、植物ウイルス学の発展と実際の花卉育種に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成28年12月15日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）